

Tableau II

	A.D.N. dans homogénat total		Rapport A.R.N./A.D.N.
	Milligrammes par gramme de tissu frais (va- leur moyenne) $\pm 2\sigma_m$	Milligrammes par 100 mg N total (valeur moyenne) $\pm 2\sigma_m$	
Temoin . . .	2,025 $\pm$ 0,110	9,9 $\pm$ 0,5	4
Shock . . .	2,150 $\pm$ 0,190	11,5 $\pm$ 1,2	2,95
Hémorragie	2,890 $\pm$ 0,360	12 $\pm$ 1,4	3,25

Confirmant nos résultats antérieurs, nous voyons que le shock traumatique entraîne une diminution de l'A.R.N. de l'homogénat total. L'hémorragie ne semble pas avoir le même effet: la déperdition aiguë de toutes les protéines plasmatiques a pour effet de mobiliser toutes les protéines disponibles et d'en activer la synthèse. Si nous considérons les différentes fractions, nous voyons qu'il y a, dans les deux sortes de shock, une grande quantité d'A.R.N. dans le liquide surnageant: ce résultat concorde avec ceux de DROCHMANS<sup>1</sup>, dans le cas de l'anoxie hépatique aiguë obtenue par la ligature de la veine porte.

On sait que CHANTRENNE<sup>2</sup> a établi l'hétérogénéité des divers granules hépatiques; les plus gros sont les plus riches en ferments, mais ils sont pauvres en A.R.N. Il est vraisemblable que ce sont les plus grosses parmi les mitochondries qui se détruisent sous l'action de l'hypoxie qu'entraîne le shock. Enfin, on notera que la concentration des A.D.N. par rapport à l'azote total de l'homogénat total reste presque inchangée; la diminution évidente du rapport A.R.N./A.D.N. chez les rats ayant subi un shock traumatique et chez ceux qui ont subi une saignée confirme entièrement les observations cytochimiques: elle correspond à la chute de la basophilie cytoplasmique, sans variation comparable de la colorabilité des noyaux et elle concorde parfaitement avec les données récentes de l'école de DAVIDSON<sup>3</sup>.

F. GAVOSTO et F. MOYSON

Laboratoire de Morphologie animale, Université libre de Bruxelles, le 5 février 1953.

# Summary

A traumatic shock decreases the ribonucleic acid content of the liver in the rat, as shown by both cytochemical and quantitative methods. In homogenates of the livers from the operated animals, the ribonucleic acid content increases in the supernatant after ultracentrifugation while it decreases in the mitochondrial fraction. The desoxyribonucleic acid is not affected by the traumatic shock.

<sup>1</sup> P. DROCHMANS, Arch. Biol. 61, 475 (1947).

<sup>2</sup> H. CHANTRENNE, Bioch. biophys. Acta 1, 437 (1947).

<sup>3</sup> R. Y. THOMSON, F. G. HEAGY, W. C. HUTCHINSON et J. N. DAVIDSON, Bioch. J. 53, 460 (1953).

## Influence des stimuli thermoalgésiques sur la réactivité à la douleur de la souris

Conditions d'application d'une variante de la méthode algésimétrique de WOOLFE et MACDONALD

Dans un travail récent de ce laboratoire, l'un de nous, en collaboration avec SZERB<sup>1</sup>, a signalé que la toute

<sup>1</sup> J. JACOB et J. SZERB, Arch. int. Pharmacodyn. 90, 301 (1952).

première exposition de souris à un stimulus thermoalgésique fournissait un temps de réaction moyen inférieur à celui de la seconde détermination.

On pouvait donc penser qu'un stimulus thermoalgésique est lui-même capable de modifier la réactivité à la douleur et nous nous sommes proposé de préciser quelques-unes des variations systématiques qui surviennent dans les temps de réactions de souris exposées à ces stimuli à des intervalles variables. Outre son intérêt propre, cette étude semblait devoir permettre d'attirer l'attention sur les conditions d'applications de la méthode algésimétrique de WOOLFE et MACDONALD<sup>1</sup> dont plusieurs variantes ont été récemment décrites par différents auteurs<sup>2</sup>.

La variante utilisée dans ce laboratoire<sup>3</sup> est surtout caractérisée par: a) des modifications dans l'appareillage; b) la constance de la température de la plaque chauffante (58°C), les temps de réaction (T.R.) servant à estimer la sensibilité des animaux; c) la réaction choisie comme test qui est, en raison de sa netteté, le réflexe de lèche-ment.

Il a tout d'abord été observé que la deuxième détermination fournissait toujours un T.R. moyen supérieur à celui de la toute première, et cela pour des intervalles de 3, 15, 30 et 120 min entre les deux expositions. Le Tableau I illustre ce phénomène; pour des groupes de 25 animaux, on y voit que la différence est significative pour les intervalles de 3, 30 et 120 min et ne l'est pas pour l'intervalle de 15 min; dans ce dernier cas cependant, le recours à des lots plus importants, comme, par exemple, celui des 100 souris du Tableau II, permet d'assurer la signification statistique de la différence observée. – Un écart moyen de 4,9 s fut également observé entre première et deuxième détermination chez 15 souris surrénalectomisées exposées à 3 min d'intervalle. Il semble donc que la toute première exposition entraîne une diminution, à la fois de la réactivité à la douleur, précoce et durable, et que ce phénomène n'est pas d'origine cortico- ou médullo-surrénalienne.

Les expositions suivantes ont des effets beaucoup plus variables dont nous ne pouvons, jusqu'à présent, étudier que le résultat global. Celui-ci varie selon la fréquence et le nombre des expositions. Si la fréquence est faible (une exposition toutes les 2 h) on n'observe plus guère de variations des T.R. (Fig. 1A). – Pour les fréquences élevées – nous avons, à cet effet, réalisé des groupes de trois expositions à 3 min d'intervalle, toutes les 30, puis toutes les 120 min – les T.R. présentent d'importantes fluctuations qui, individuellement, sont mal systématisées mais qui aboutissent à une intense élévation (Fig. 1, CII). Le même phénomène s'observe, peut être intensifié, chez des souris surrénalectomisées (Fig. 1, CI). Lorsque les T.R. sont ainsi augmentés, un repos de 14 h ne suffit pas pour les faire revenir à la normale. Il convient d'observer que cet allongement des T.R. ne traduit pas nécessairement, de façon exclusive, une analgésie, au sens propre du mot, car les souris présentent alors un état de prostration plus ou moins accusé.

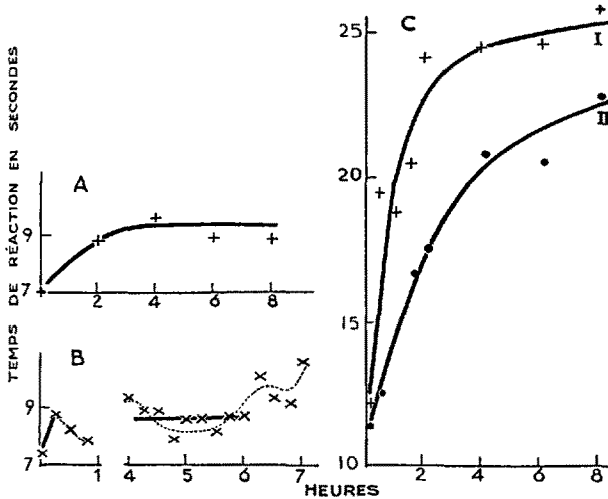
Les fréquences moyennes furent surtout explorées sous la forme de témoins servant à d'autres expériences; la courbe B de la Figure illustre l'un des cas le mieux étudié dans lequel un repos de 3 h sépare 4 mesures

<sup>1</sup> G. WOOLFE et A. D. MACDONALD, J. Pharmacol. 80, 300 (1944).

<sup>2</sup> N. B. EDDY, C. TOUCHBERRY et J. E. LIEBERMANN, J. Pharmacol. 98, 121 (1950). – A. LESPAIGNOL, F. MERCIER, J. BERTRAND et J. MERCIER, Ann. Pharmaceut. françaises 8, 241 (1950). – J. PORSZASZ et F. HERR, Acta Physiol Acad. Sci. Hung. 2, 469 et 479 (1951). – J. Y. B. CHEN et H. BECKMAN, Science 113, 631 (1951).

<sup>3</sup> J. JACOB et J. SZERB, Arch. int. Pharmacodyn. 90, 301 (1952). – J. SZERB et J. JACOB, Exper. 7, 466 (1951).

préliminaires d'un groupe de 14 autres, réalisées à 15 min d'intervalle; on y voit que, pour ce groupe de 14 mesures, les valeurs obtenues ont une constance satisfaisante pendant 2 h mais qu'elles tendent ensuite à s'accroître.



Influence de la fréquence des expositions sur les temps de réaction. A = Fréquence faible: 25 souris. B = Fréquence moyenne: 76 souris. En tirets, les fluctuations non significatives. C = Fréquences élevées: chaque point correspond à la moyenne de 3 déterminations réalisées à 3 min d'intervalle. I: 15 souris surrenalectomisées. II: 20 souris normales.

On remarquera aussi que la première détermination qui suit le repos de 3 h a fournis un T.R. moyen supérieur à ceux des expositions préliminaires. En outre, la période de stabilité montre en réalité, au début, une tendance à la diminution des T.R. qui n'est pas significative mais nous paraît cependant mériter d'être signalée, car cette tendance est également manifeste dans un graphique de EDDY et coll.<sup>1</sup>.

Tableau I  
Comparaisons entre les résultats fournis par deux déterminations successives chez des souris neuves (groupes de 25 animaux)

Intervalle (en minutes)	1 <sup>re</sup> détermination		2 <sup>e</sup> détermination		Différence	Indice <i>t</i>
	T.R. moyen (s ±)	E.S. de la moyenne	T.R. moyen (s ±)	E.S. de la moyenne		
120	7,14	0,34	8,84	0,45	+ 1,7	3,0
30	6,77	0,43	8,12	0,46	+ 1,35	2,14
15	7,56	0,48	8,36	0,63	+ 0,8	1,0
3	8,24	0,56	12,6	1,12	+ 4,36	3,35

De ces observations, deux espèces de conclusions nous semblent pouvoir être déduites. 1° Les premières sont théoriques: l'exposition d'un animal à un stimulus thermalgésique modéré est capable de modifier sa réactivité à la douleur; le tout premier stimulus a toujours diminué cette réactivité et il n'est pas exclu que ce phénomène soit en relation avec les analgésies succédant à des traumatismes ou émotions intenses (KIESSIG et ORZECZOWSKY<sup>2</sup>) ou à une douleur localisée (PARSONS et GOETZL<sup>3</sup>). Dans notre cas, il n'est pas d'origine sur-

rénalienne. Les stimuli répétés ont des effets variables selon la fréquence des expositions; une stabilisation n'est réalisée que pour des fréquences modérées, et cela de façon d'autant plus durable que cette fréquence est plus faible. Nous sommes enclins à voir, dans cette stabilisation, une espèce de processus adaptatif dont les limites sont dépassées pour les hautes fréquences d'exposition.

Tableau II  
Résultats de 4 déterminations successives à 15 min d'intervalle (groupe de 100 souris triées au cours des deux premières expositions et réparties en 20 lots de 5 animaux)

Détermi- nations	T.R. moyen (secondes)	DS <sub>1</sub>	DS <sub>2</sub>	E.S. de la moyenne
1	6,5	2,1	1	0,21
2	7,6	2,4	1	0,24
3	7,8	3,4	1,6	0,34
4	8,1	4,3	1,9	0,43

T.R. = Temps de réaction. E.S. = Erreur standard. DS<sub>1</sub> = Déviation standard individuelle =  $(\sum d^2x)/n-1$  où  $dx$  = déviation de chaque valeur individuelle à partir de la moyenne et  $n = 100$ . DS<sub>2</sub> = Déviation standard par groupe de 5 souris =  $(\sum d^2y)/n'-1$  où  $dy$  = déviation de la moyenne obtenue avec chaque lot de 5 animaux à partir de la moyenne générale et  $n' = 20$ .

2° D'un point de vue pratique, l'application de cette méthode à l'étude de substances analgésiques nous semble devoir respecter les conditions suivantes:

- a) la valeur des T.R. fournie par la toute première détermination ne peut être utilisée comme valeur témoin;
- b) la fréquence des déterminations doit être modérée et adaptée à la durée de l'expérience projetée; pour des expériences de durée moyenne, des intervalles de 15 à 30 min permettent une stabilisation satisfaisante.

D'une façon générale, il convient en outre de trier les souris, et cela grâce aux résultats des premières mesures en éliminant celles qui présentent alors un T.R. égal ou supérieur à 14 s. Le Tableau II montre les résultats obtenus dans ces conditions pour quatre mesures réalisées à 15 min d'intervalles, avec triage au cours des deux premières déterminations.

Ces valeurs nous ont servi de base pour des expériences rapides de simple détection d'une activité analgésique: en effet, si un groupe de 5 souris triées a fourni, à la seconde détermination, un T.R. moyen de  $7,6 \pm 1$ , la probabilité pour que le T.R. soit spontanément égal ou supérieur à 14 s, lors des 3<sup>e</sup> et 4<sup>e</sup> mesures, est inférieure à 0,01: en d'autres termes, si l'administration d'une substance à un tel groupe entre les deuxième et troisième mesures provoque une ascension des T.R. moyens de 6 s, on peut conclure à l'activité du produit étudié.

L'intervalle qui sépare la 3<sup>e</sup> de la 2<sup>e</sup> mesure, utilisé pour traiter les animaux, peut être sans inconvénient porté de 15 à 60 min selon le temps nécessaire pour la manipulation des groupes étudiés.

Dans l'ensemble, et avec des petits groupes d'animaux, cette variante de la méthode de WOOLFE et MACDONALD a permis de mettre en évidence les actions de 5 mg/kg s.-c. de morphine, 2 mg/kg s.-c. d'amidone, 100 mg/kg i.-p. de pyramidon et de salicylamide; les salicylates et l'acide acétylsalicylique, par contre, n'ont eu d'effet, par diverses voies, qu'à des doses directement subtoxiques. J. JACOB et Mme G. GRASSI-GIALDRONI

Laboratoire de Pharmacologie, Service de Chimie Thérapeutique Institut Pasteur, Paris, le 12 février 1953.

<sup>1</sup> N. B. EDDY, C. TOUCHBERRY et J. E. LIEBERMANN, J. Pharmacol. 98, 121 (1950).  
<sup>2</sup> H. J. KIESSIG et G. ORZECZOWSKY, Arch. exp. Pathol. Pharmacol. 197, 391 (1940-1941).  
<sup>3</sup> C. M. PARSONS et F. R. GOETZL, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 60, 327 (1945).

Summary

Certain features of a modification of WOOLFE and MACDONALD algesimetric method are outlined.

Systematic variations of the mean reaction times occur independently of every manipulation other than the exposition of mice to thermoalgesic stimuli. The principal ones are:

(1) The second determination yields a mean value which is always superior to that of the first one.

(2) Repeated determinations yield values which become stable only when the frequency of the expositions is relatively low (one every 15 min or less); with high frequency exposures (group of three exposures every 30 or 120 min) the mean reaction time increases considerably.

These variations still appear after adrenalectomy. Practical conditions for the use of this method concerning the study of analgesics are deduced from these facts and an experimental scheme is given as an illustration.

A Humoral Agent with Immediate Eosinopenic Effect other than Cortisone

Fluctuations in the number of circulating eosinophils have recently been the subject of numerous papers in connection with the different states of "stress-conditions". The literature supports the statement that activation of the non-specific defence mechanism is regularly followed about 4 h later by a pronounced diminution of circulating eosinophils. In the so-called Thorn-test<sup>1</sup>, a decrease of eosinophils of more than 50 % indicates a sufficient reserve of the hypophyseal-adrenal axis. Authors generally assume that cortisone-like substances liberated from the adrenals during different injuries (adrenaline, formaline, salicylate, etc.) are responsible for the eosinopenic effect. This statement was based on the well known fact that only cortisone and hydrocortisone are capable of producing significant eosinopenia in adrenalectomised animals. Cortisone therefore was regarded as the end-substance of the above mechanism.

Some controversial data, however, were published in the past. According to ROMANI<sup>2</sup>, the mechanism of eosinopenia induced by cortisone and A.C.T.H. differs from that of formaline and adrenaline. OLÁH and VARRÓ<sup>3</sup> demonstrated that the cortisone eosinopenia fails to develop in deep hexobarbitone narcosis.

It is a well-known fact that 3–4 h are necessary for the development of a significant fall of eosinophils, whatever kind of stressors were used—even if the suspected end-substance, cortisone, was administered. It is interesting in this relation that LOVE<sup>4</sup> succeeded in producing eosinopenic response in animals subjected to adrenalectomy as soon as 10 min after stress. It seems therefore that sufficient amounts of cortisone are liberated during this short period, and the subsequent time is needed for developing the eosinopenic effect of cortisone. The conception of a direct effect of cortisone is finally weakened by the fact that up to the present no one has been able to demonstrate irrefutably its *in-vitro* eosinolytic power.

We therefore supposed that cortisone induces eosinopenia by mobilizing some hitherto unidentified substance.

**Experiments.**—Experiments were carried out on albino rats weighing 100–180 g. Eosinophil counts were taken by the modified Dunger-Method<sup>1</sup>. Rats were stressed by 50 µg subcutaneous adrenaline. At the time of eosinophil depression blood was withdrawn from the (decapitated) donors. Serum was isolated within 30 min and 0.5–0.75 ml was injected in the tail vein of acceptor rats. Eosinophils were counted immediately before and 10, 20, 30 min after the serum was injected.

Control animals received sera of non-stressed rats under similar experimental conditions.

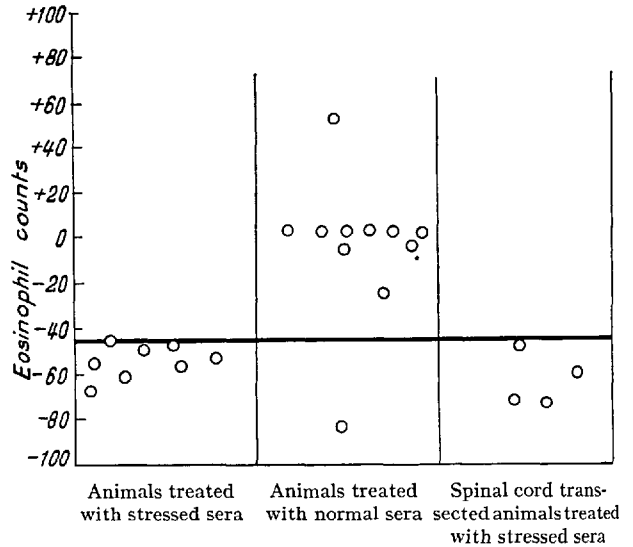


Fig. 1.—Percent changes of the circulating eosinophils of rats in the first 30 min after different serum-transfusions.

Results are presented in Figure 1. As demonstrated, sera of stressed animals regularly induced significant eosinopenia within 10–30 min. This phenomenon failed to develop in rats transfused with non-stressed sera.

Absolute eosinophil count of rats after intravenous administration of Cortone-Merck.

No.	Microgram dose	Eosinophil counts				
		Control	After the Cortisone injection			
			10 min	20 min	30 min	4 h
1	125	1280	3500		2740	216
2	125	885	2350	1370	1090	
3	62.5	760	1105	510	516	55
4	62.5	1010	1175	1010	922	
5	50	378	415	333	333	

In further experiments we administered 62.5–125 µg cortisone (Cortone-Merck was diluted with physiological saline 1:400–1:200, and 1 ml was injected intravenously). Eosinophils were counted before and 10, 20, 30 min after the injection. To control the preparation in two cases the 4 h eosinophil count was also determined.

As is shown in the Table intravenous cortisone fails to produce a significant eosinopenia within 30 min. On the contrary a moderate eosinophilia is the rule.

<sup>1</sup> G. W. THORN *et al.* J. Amer. Med. Assoc. 137, 1005, 1544 (1948).

<sup>2</sup> J. P. ROMANI, C. r. Soc. Biol. 146, 654 (1952).

<sup>3</sup> F. OLÁH, V. VARRÓ, M. MAJOROS, K. KOVÁCS, and D. BACH-RACH, Orvosi Hetilap 92, 1129 (1951).

<sup>4</sup> W. D. LOVE, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 75, 639 (1950).

<sup>1</sup> A. DUNGER, Münch. med. Wschr. 57, 1942 (1910). – I. RECANT *et al.*, J. Clin. Endocrin. 10, 187 (1950).